Aus der I.Inneren Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Berlin-Neukölln
(ärztlicher Direktor: Prof.Dr.K.Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF,
Assoziation mit Euratom, München.
(Leiter: Prof. Dr. W.Stich)

Die Einwirkung eines Serums mit erhöhtem Erythropoietingehalt auf menschliches Knochenmark in vitro

DISSERTATION
zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Horst Eisold aus
Gerdauen

1973

Aus der I.Inneren Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Berlin-Neukölln
(ärztlicher Direktor: Prof.Dr.K.Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF,
Assoziation mit Euratom, München.
(Leiter: Prof. Dr. W.Stich)

Die Einwirkung eines Serums mit erhöhtem Erythropoietingehalt auf menschliches Knochenmark in vitro

DISSERTATION
zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Horst Eisold aus
Gerdauen

Referent: Prof. Dr. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. Heinrich Gerhartz

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 29. November 1973

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gliederung

	Seite
Literaturüberblick	1
Fragestellung	4
Material und Methode	5
Krankenblattauszüge vom Serumspender und von 5 Knochenmarkspendern	8
Schema der Signifikanzberechnung	15
Ergebnisse der 5 Versuche	16
Reifungskurven G/E-Indices Mitoseindices, rote und weiße Signifikanzberechnungen Tabelle über die Retikulumzellzahl Karyologische Kurven	
Zusammenfassung der Ergebnisse aus 5 Versuchen	36
Diskussion	46
Zusammenfassung	50
Lebenslauf	52
Literaturverzeichnis	53

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0078

Grundsätzliches über Erythropoietin

Die normalerweise die Erythropoese kontrollierende Substanz wird als Erythropoietin (ESF) bezeichnet. Sie steuert bei Versuchstieren wie beim Menschen die Erythropoese (11,21,34,55), die durch Blutverlust oder beschleunigte Erythrozytenzerstörung und unter Sauerstoffmangel vermehrt wird.

Nach W. REMMELE (61) versteht man unter ESF = erythropoetic stimulating factor alle Erythropoietine, unter REF = renal erythropoetic factor nur den renalen erythropoetischen Faktor.

ESF ist durch geeignete Methoden im Plasma nachweisbar. Eine Reindarstellung ist bisher weder von ESF noch von REF gelungen; die chemische Zusammensetzung ist nicht bekannt. Wahrscheinlich handelt es sich um Glycoproteide mit einem hohen Gehalt an Neuraminsäure, Galaktose und Glukosamin, die in der Elektrophorese zwischen den $Alpha_1$- und $Alpha_2$-Globulinen wandern.

Das Molekulargewicht schwankt zwischen 10 000 und 60 000 (76,77). Durch Behandlung mit Trypsin, Pepsin, Papain und Fluorthiocyanat geht die biologische Aktivität verloren (75). Bei Versuchstieren wird durch Injektion von Antiserum gegen den Plasmafaktor eine signifikante Depression der Erythropoese hervorgerufen (67,68,69).

Der Hauptbildungsort von REF ist die Niere (1,24,52), aber auch extrarenale Gewebe können REF und ESF produzieren (29,31,50). Unter normalen Bedingungen kommen nur ca. 10 % des Plasma-Erythropoietins aus anderen Organen wie der Milz und der Leber (35).

Der renale Erythropoietinfaktor (REF) wirkt auf ein Serumsubstrat - das Erythropoietinogen - ein und wird durch enzymatische Umwandlung in das eigentliche erythropoesestimulierende Erythropoietin (ESF) überführt (15,44,46,47).

Nachgewiesen wurde der REF aus Nierenhomogenaten in der Fraktion der Zellkerne (45), der Mitochondrien (15) und der Mikrosomen (78). In diesen Homogenaten wurde auch ein Inhibitor gegen REF und ESF gefunden (22), der allerdings mit einem Inaktivierungssystem gegen ESF identisch sein kann, den andere Autoren (3,4) in Rattenserum nachgewiesen haben.
Die Normalwerte von ESF im menschlichen Serum sind 0,003 IE/ml (66,72,73). Andere Autoren schätzen den Normalgehalt mit 0,005 IE/ml höher ein (54).
Die Höhe des Erythropoietingehaltes im Plasma hängt ab von:

1. der Produktionsrate,
2. der Metabolisierung, vorwiegend in der Leber,
3. dem Verbrauch im Knochenmark.

Die Steuerung der Erythropoietinbildung ist abhängig vom Sauerstoffmangel, d.h. von der Beziehung zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im Gewebe (15,20,26,32, 51,55). Schon bei geringen Störungen der Sauerstoffversorgung springt der Regelmechanismus an.
Die Angriffspunkte vom Erythropoietin im Knochenmark sind:

1. Es veranlaßt hauptsächlich undifferenzierte Stammzellen zur Differenzierung in Richtung auf die Erythropoese (15,16,30,36).

2. Es stimuliert die DNS-Synthese (38,56), die Neubildung von Häm (17,32,43), die Glykolyse (53) und den Einbau von Glukosamin ins Stroma (16).

ESF wird hauptsächlich in der Leber abgebaut und im Harn ausgeschieden. Die tgl. Ausscheidung beträgt beim Mann 1 - 5 IE, bei der Frau 0,4 - 4 IE (3,4).
Andere Angaben schwanken zwischen 2,8 und 7,5 IE (2).

Nachweis von Erythropoietin: Die normale ESF-Konzentration im Plasma und Urin ist nicht hoch genug, um das ESF mit

den z. Zt. zur Verfügung stehenden Methoden chemisch nachweisen zu können. Mit biologischen Testanordnungen kann man jedoch ESF nachweisen.
Als in-vivo-Parameter wurden hierzu in der Hauptsache Ratten, Mäuse und Kaninchen verwendet im Normalzustand (40), im Hungerzustand (30,40), nach Hypophysektomie (39,40), nach einer Transfusionspolycythämie (30,39) oder in Unterdruckkammern (13).
Als Kriterien für eine gesteigerte Erythropoese wurden die Vermehrung der Einbaurate von radioaktivem Eisen, des Hämatokritwertes, des Hämoglobingehaltes sowie die Reticulocytenzählung angesehen.
Heute wird am häufigsten die Bestimmung der FE-59 Inkorporation in zirkulierenden Erythrozyten bei hungernden oder durch Übertransfusion bzw. durch die Höhenkammer polycythämisch gemachten Testtieren zur Erythropoietinbestimmung benutzt.
Auf Grund dieser Methoden wurde ein internationales Referenzpräparat für ESF und die Internationale Einheit als Definition der biologischen Aktivität festgelegt. Danach entspricht 1 IE der Aktivität, die nach Gabe von 1,48 mg der "International Reference Preparation" meßbar ist (12,77).
Neben diesen Untersuchungen an lebenden Tieren haben sich Arbeitsgruppen mit der Beeinflussung der Zellproliferation von Knochenmarkkulturen - in-vitro-Parameter - durch ESF befaßt.

ERSLEV (18) setzte Knochenmarkkulturen Erythropoietin zu und fand, daß mit der Menge des zugesetzten Erythropoietins auch die FE-59-Aufnahme im Knochenmark wuchs.
Kulturen aus Kaninchenknochenmark benutzten MATOTH (48) und MATOTH und PORATH (49). Nach Zugabe von erythropoietinhaltigem Serum verschiedener Herkunft zeigte sich bei ihren Versuchen bereits nach 5^h eine Vermehrung von Ery-

throblastenmitosen; durch normales Serum gab es keine Reaktion.
REISNER jr. (58) hat 20 % menschliches Serum mit 80 % NCTC109 6-7 Tage mit Polycythämie-Serum kultiviert.
Die Auswertung der Knochenmarkkulturen ergab eine Stimulierung der Erythropoese durch das Serum.
In einer weiteren Arbeit hat REISNER jr. (59) menschliches Testosteron, Ca^{++}- und K^{+}-Ionen, OH und 11-ketopregnenolone dazugegeben. Diese Faktoren stimulierten auch die Erythropoese.

Fragestellung: In dieser Arbeit soll aufgezeigt werden, wie sich die Proliferation der Erythropoese in menschlichen Knochenmarkkulturen unter Zusatz von Serum mit nachweislich erhöhtem Erythropoietingehalt während 3 Tage in vitro innerhalb 3 bzw. 4 Tagen qualitativ und quantitativ verändert.
Zu diesem Zweck werden die einzelnen Kulturen 24^{h}, 48^{h}, 72^{h} und 96^{h} mit und ohne Serum mit erhöhtem ESF-Gehalt bebrütet. Anhand von Differentialzählungen der nach Pappenheim gefärbten Kulturausstriche bis 96^{h} soll durch Vergleich von Kontrolle und ESF-Zusatz eine gegebene Veränderung der Proliferation in den einzelnen Bebrütungsstadien festgestellt und berechnet werden.
Als Ausgangswert dient jeweils der Originalausstrich "am Krankenbett".
Als Parameter der Proliferation werden Mitoseindices, G/E-Indices, Reifungs- und karyologische Kurven aufgestellt. Veränderungen der Proliferation nach der positiven oder negativen Seite werden durch die Signifikanzberechnung statistisch gesichert.

Material und Methode: Das für die Versuche benötigte Knochenmark wurde durch Sternalpunktion von 5 Patienten gewonnen. Es wurden Ausstriche und Koagulumkulturen dieses Knochenmarks nach der von BOLL (6) modifizierten Carell'schen Technik angefertigt.
Ein kleiner Teil des gewonnenen Knochenmarks wurde sofort nach der Sternalpunktion ausgestrichen, um als Ausgangswert zur Beurteilung der durch die Bebrütung eingetretenen Zellverschiebung zu dienen.
Das restliche Knochenmark wurde unter sterilen Bedingungen in einem durch UV-Bestrahlung keimarm gehaltenen Raum in Kultur gesetzt.
Als Kulturmedium diente ein Koagulum, das sich zusammensetzt aus: 50 % autologes Nativplasma - in silikonisierten, eisgekühlten Röhrchen gewonnen -, 10 % Corhormon^{R}, 3fach verstärkt als Wuchsstoff, und 40 % autologes Serum.

Bei den Zusatzkulturen wurde das Eigenserum durch 40 % Serum mit einem erhöhten Erythropoietingehalt ersetzt. (Die eine Bestimmung von 0,25 IE/ml verdanken wir Prof. Dr. Wolters, Klinikum Berlin-Steglitz, in dessen Labor die Normalwerte als nicht meßbar angegeben wurden, die zweite Fr. Dr. E. Bock, Ulm, Zentrum für Innere Medizin der Universität, die ebenfalls deutlich erhöhte Werte (4,48 % statt bis 1,3 %) bestimmte.) Das Serum war von einem Patienten mit Forsell-Syndrom gewonnen worden und eingefroren aufbewahrt (42). Je ein Tropfen dieses Nährmediums, mit bzw. ohne Zusatzserum, wurde auf einen Hohlschliffobjektträger gebracht und bildet dort nach einigen Minuten ein Koagulum; auf dieses wurde ein Knochenmarkbröckel aufgebracht und mit demselben Serum bedeckt, das dem Koagulum beigemischt wurde.

Die Kulturen wurden als hängende Tropfen in einen Hohlschliffobjektträger unter Paraffin luftdicht verschlossen und im Brutschrank bei 37° Celsius bebrütet. Dann wurden nach 24^{h}, 48^{h}, 72^{h} und 96^{h} von den Kontroll- und Erythropoietin-Serumzusatzkulturen jeweils drei Ausstriche ange-

fertigt, luftgetrocknet und nach Pappenheim gefärbt. Es wurden im Durchschnitt je 2 000 Zellen pro Kulturzeit gezählt.

Wir differenzierten folgende Zellen:

a.) Erythropoese (7):

1) Proerythroblast, PE
2) basophiler Erythroblast, bE
3) polychromatischer Erythroblast, pE
4) oxyphiler Erythroblast, oE
5) reifer Erythroblast, rE

b.) Granulopoese (8,63):

1) Myeloblast
2) Promyelocyt
3) neutrophiler Myelocyt
4) eosinophiler Myelocyt
5) basophiler Myelocyt
6) Metamyelocyt (neutrophiler jugendlicher Granulocyt)
7) Promonocyt
8) stabkerniger Granulocyt
9) segmentkerniger Granulocyt
10) eosinophiler Granulocyt
11) basophiler Granulocyt
12) Monocyt

c.) Weiter werden differenziert (63):

1) Lymphocyt
2) Retikulumzellen, groß und klein
3) Plasmazelle
4) Megakaryocyt

Neben der Differenzierung der einzelnen Zellform benötigten wir auch die Abgrenzung der verschiedenen Mitosephasen.
In der Erythropoese werden zu den teilungsfähigen Zellen alle Zellklassen mit Ausnahme der reifen Erythroblasten, in der Granulopoese die Granuloblasten vom Myeloblasten bis zum Metamyelocyten und Promonocyten gezählt.

Nach BOLL (6) unterscheiden wir sechs Teilungsphasen:

1. Prophase (P):

   Die Kernmembran und die Nukleolen sind aufgelöst. Die Chromosomen sind als dichte Fäden im festen Spirem mit hellen Zwischenräumen sichtbar.

2. Frühe Metaphase (fM):

   Die Chromosomen sind über die ganze Zelle verteilt, lockeres Spirem.

3. Späte Metaphase (sM):

   Die Chromosomen ordnen sich in der Äquatorialplatte an. In der Aufsicht als Monaster mit sternförmig angeordneten Chromosomen.

4. Anaphase (A):

   Die Chromosomen sind in zwei Gruppen zu den entgegengesetzten Polen hin ausgerichtet; sie bilden einen Diaster.

5. Telophase (T):

   Einschnürung bzw. Taillenbildung der Zelle. Die Chromosomen bilden noch ein lockeres Dispirem.

6. Rekonstruktionsphase (R):

Zwei Tochterzellen, die noch durch einen feinen Plasmafaden verbunden sein können. Festes Dispiren vor Ausbildung der Kerne mit Kernmembran in den beiden Tochterzellen.

Aus dem gewonnenen Zellmaterial wurden 96 236 Zellen, einschließlich 154 Mitosen, aus 43 Kulturausstrichen und 5 verschiedenen Knochenmarkproben gezählt.
Nach den Differentialzählungen wurden die ermittelten Zahlen graphisch in Reifungskurven dargestellt, weiterhin in Tabellen der Mitoseindices getrennt für die Erythropoese und Granulopoese angefertigt und das Verhältnis der Granulopoese zur Erythropoese im G/E-Index ermittelt. Die Reifungskurven geben zeitabhängig die prozentuale Verteilung der Reifungsstufen, getrennt für die rote und weiße Reihe, wieder. Die Mitoseindices werden in Promille angegeben; sie bezeichnen das Verhältnis der Mitosen auf 1 000 teilungsfähige Zellen, während der G/E-Index das relative Verhalten der Granulopoese zur Erythropoese zeigt.
Weiterhin wurden Mittelwertskurven für die roten Mitoseindices, die weißen Mitoseindices und den G/E-Index aus den Tabellen dargestellt sowie karyologische Kurven, welche die prozentuale Mitosephasenverteilung wiedergeben, angefertigt.

Bei den Krankenblattauszügen werden folgende Abkürzungen gebraucht:

Hb	:	Hämoglobin	Bas	:	Basophile Myelozyten
E	:	Erythrozyten	Met	:	Metamyelozyten
HTK	:	Hämatokrit	St	:	Stabkernige
MbE	:	Mittlerer Hb-Gehalt der Erythrozyten	Seg	:	Segmentkernige
Reti	:	Retikulozyten	Lym	:	Lymphozyten
L	:	Leukozyten	Mon	:	Monozyten
Eos	:	Eosinophile Myelozyten	Thr	:	Thrombozyten

Serum des Spenders:

M.E. geb. 27.9.09, Aufn.Nr.: 1442/69

Klin. Diagn.: Polyglobulie bei Zystennieren.

Blutbild:			
	Hb	18,2	g%
	E	5,70	Mill/mm^3
	HTK	59,0	%
	HbE	31,6	pg
	L	9600	/mm^3
	Thr	98000	/mm^3
	Eos	3	%
	Met	4	%
	St	29	%
	Seg	50	%
	Lym	13	%
	Mo	1	%

BSG: 0/0 mm n. W.

Alk. Leukozytenphosphatase: Index 425

ESF-Gehalt im Serum: 0,25 IE/ml

Sternalpunktat: Zellreiche Ausstriche. Erythropoese stark vermehrt mit deutlicher Linksverschiebung, vereinzelt megaloblastoide Zellen. Granulopoese ebenfalls angeregt und linksverschoben. Vorwiegend Promyelozyten, Myelozyten, aber auch viele Stabkernige und Segmentkernige. Reichlich Megakaryozyten in allen Reifestufen.

Knochenmarkspender:

1) Sch.E. geb. 4.12.1896, Aufn.Nr. 335/70

Klin. Diagn.: Hyperchrome Anämie, Diabetes mellitus, Herzinsuffizienz.

Blutbild:

Hb	12,8	g%
E	3,70	Mill/mm^3
HbE	34,7	pg
L	4200	/mm^3
Eos	3	%
St	3	%
Seg	69	%
Lym	23	%
Mo	2	%

BSG: 16/36 mm n. W.

Schillingtest: 10,6 %

Magensaft: Sauer

Harnstoff: 49 mg%

Kreatinin: 0,9 mg%

Fe i. Serum: 90 γ %

Therapie: Depot-Insulin Hoechst^R
Euglucon^R
Lanicor^R
Plastulen^R
Binotal^R

Sternalpunktat: Im Vordergrund steht die angeregte Granulopoese. Einzelne Megaloblasten und Riesenstäbe lassen an das Vorliegen einer Folsäuremangelanämie denken.

2) M.S. geb. 27.11.1902, Aufn.Nr.: 10819/69

Klin. Diagn.: Polyneuritis, chron. Pyelitis, Verdacht auf Morbus Biermer.

Blutbild:

Hb	10,6	g%
E	3,42	Mill/mm^3
HbE	31,0	pg
L	8300	/mm^3
Bas	1	%
Eos	1	%
St	4	%
Seg	74	%
Lym	18	%
Mo	2	%

BSG: 92/125 mm n. W.

Schillingtest: 15,2 %

Magensaft: Anacide

Harnstoff: 49 mg%

Kreatinin: 1,5 mg%

Fe i. Serum: 69,3 γ%

Therapie: Novalgin^R
Valium^R
Distraneurin^R
Fortral^R

Sternalpunktat: Es handelt sich um einen unauffälligen Knochenmarkbefund.
Keine Megaloblasten.

3) K.G. geb. 17.10.1905, Aufn. Nr.: 8684/69

Klin.Diagn.: BSG-Beschleunigung ungeklärter Ätiologie.

Blutbild:

Hb	10,3	g%
E	3,65	Mill/mm^3
HbE	28,2	pg
Reti	12	‰
L	3600	/mm^3
Eos	2	%
Meta	1	%
Seg	55	%
Lym	34	%
Mon	8	%

BSG: 57/96 mm n. W.

Harnstoff: 50 mg%

Kreatinin: 1,6 mg%

Fe i. Serum: 84,1 γ%

Therapie: Valium^R

Euflat^R

Sternalpunktat: Das Sternalpunktat zeigt einen Befund wie bei Entzündung.

4) H.M. geb. 19.6.1912, Aufn.Nr.: 11564/69

Klin. Diagn.: Normochrome Anämie, Tabletten-Abusus, Niereninsuffizienz.

Blutbild:

Hb	7,0	g%
E	2,2	Mill/mm^3
HTK	22,0	%
HbE	32	pg
Reti	30	‰
L	5200	/mm^3
Bas	1	%
Eos	3	%
St	2	%
Seg	74	%
Lym	19	%
Mon	1	%
Thr	312000	/mm^3

BSG: 63/92 mm n. W.

Kreatinin: 1,9 mg%

Harnstoff: 59,0 mg%

Therapie:
Valium^R
Vibramycin^R
Psyquil^R
Strophantin^R
Lasix^R
Paspertin^R

Sternalpunktat: Angeregte Erythropoese und Zeichen chronischen Infektes.

5) H.K. geb. 5.11.1908, Aufn.Nr.: 10598/69

Klin. Diagn.: Chronische Pyelonephritis, Nephrolithiasis li., Leberparenchymschaden, Lendenwirbelkörper-Osteolyse

Blutbild:

Hb	11,6	g%
E	4,05	Mill/mm^3
HbE	28,4	pg
L	7400	/mm^3
St	1	%
Seg	62	%
Lym	25	%
Mon	12	%

BSG: 80/121 mm n. W.

Harnstoff: 33 mg%

Kreatinin: 1,4 mg%

Alk. Phosphat.: 18,2 mMol-E

Fe i. Serum: 110,2 γ%

Therapie:
Valium^R
Euphillin^R
Lanicor^R
Cosaldon ret.^{R}
Vibramycin^R
Regelan^R
Furadantin ret.^{R}
Combicym^R
Mehrmals 1 Amp. Konakion bei einem Quickwert von 36 %.

Sternalpunktat: Angeregte Erythropoese und Zeichen chronischen Infektes.

Schema der Signifikanzberechnung

Die in den Fällen I - III notwendige Signifikanzberechnung der Reifungskurven und der roten Mitoseindices ist mit Hilfe des χ^2-Tests nach PEARSON durchgeführt worden.

Dieser Test gibt nach optischem Vergleich graphischer Darstellungen der differenzierten Zellformen die mathematisch einwandfreie Signifikanz in der Erythropoese an. Es wird die Signifikanz von je 2 Zählreihen bestimmt, wobei folgende Bezeichnungen angewendet werden:
a = Zellzahl der Kulturen mit Erythropoietin-Serumzusatz,
b = Zellzahl in den Kontrollkulturen,

$E = \frac{a + b}{2}$ (Erwartungswert), wenn Summe a = Summe b

Differiert die Summe der Zellzahlen der Reihe a von der Summe der Zellzahlen der Reihe b erheblich, so wird der Erwartungswert folgendermaßen bestimmt:

$\frac{a + b}{\text{Summe a + Summe b}}$, der dann mit Summe a bzw. Summe b multipliziert wird.

s = Differenz a - E (Absoluter Wert),

χ^2 = Summe der Einzelergebnisse $\frac{s2}{E}$,

χ^2 ist eine Maßzahl für die Übereinstimmung oder Nichtübereinstimmung der verglichenen Zahlenreihen. In den Tabellen werden χ^2 sowie deren P-Werte (Probability = Wahrscheinlichkeit) angegeben.

$P > 0{,}05$ % : Die Differenz zwischen beiden Reihen ist zufallsbedingt.

$0{,}05\ \% > P > 0{,}01$ % : Die Zugehörigkeit beider Meßreihen zu derselben Grundgesamtheit ist zweifelhaft.

$0{,}01\ \% > P > 0{,}0027\ \%$: Die Differenz zwischen beiden Meßreihen ist statistisch einigermaßen gesichert.

$P < 0{,}0027\ \%$: Die Differenz zwischen beiden Meßreihen ist statistisch gut gesichert.

Ergebnisse:

Versuch I, S.E. Megaloblastäre Anaemie

A. Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und Granulopoese in den Kulturen (Abb. I).

In der Erythropoese kommt es, wie bekannt (7), bei den Kontrollen zu einer progressiven Abnahme der teilungsfähigen Erythroblasten und Zunahme der reifen Erythroblasten, die nach 96^h als einzige Erythroblastenvorstufen vorkommen.
Unter Erythropoietin-Serumzusatz tritt nach 24^h - 48^h eine relative Vermehrung der teilungsfähigen Erythroblasten ein; die reifen Erythroblasten nehmen dementsprechend später ab.

Mit zunehmender Bebrütungsdauer kommt es auch beim Fremdserumzusatz zu einer Verminderung der unreifen Formen zugunsten der reifen Erythroblasten, die nach 96^h 100 betragen.
Die Signifikanzberechnung (Tab. 1,2) zeigt folgendes Resultat: Der P-Wert des Versuches S.E. ist sowohl bei 24^h als auch bei 48^h kleiner als 0,0027 Å. Somit ist die Differenz zwischen den beiden Meßreihen statistisch gut gesichert.

Die Granulopoese zeigt eine Tendenz zur Abnahme der teilungsfähigen Zellen, d.h. eine Linksverschiebung, die bei Erythropoietin-Serumzusatz und fortschreitender Bebrütungsdauer noch zunimmt.

B. G/E-Indices (Tab. 3, Spalte 1)

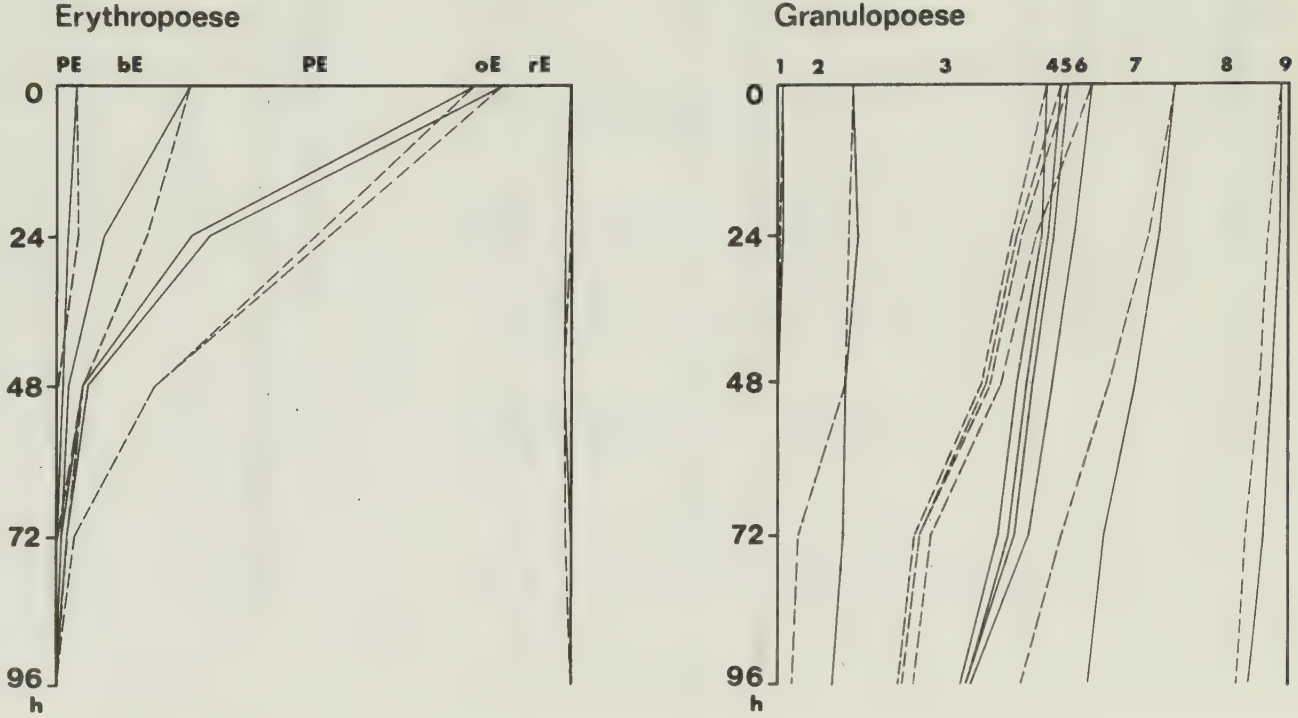
Der G/E-Index nimmt bei der Kontrolle bis zu 72^h ab, d.h. prozentual nehmen die Erythroblasten zu, um bei 96^h wieder abzunehmen (7).

Abb. I, Versuch I, Reifungskurven S.E.
Megcloblastäre Anaemie

Kontrolle : ————————

Polyglobulie - Serum : — — — — —

1 Myelobl. 6 Jgdl.
2 Promyelo. 7 Stabk.
3 Myeloc. 8 Segm.
4 Eos. 9 Eos.
5 Bas.



Tab. 1 Signifikanzberechnung, Versuch I, S.E. x^2-Verfahren
Reifungskurve

	Kontrolle 24h		Zusatz 24h		Kontrolle + Zusatz 24h	
	B	%	A	%	B+A	%
PE	9	3	24	4	33	0,0336
bE	24	7	87	14	111	0,1130
pE	62	17	207	33	269	0,2740
oE	12	3	6	1	18	0,0183
rE	247	70	304	48	551	0,5611
n_1 =	354	100 %	n_2 = 628	100 %	n_3 = 982	1,0000

	B	E	$(B-E)^2/E$	A	E	$(B-E)^2/E$
PE	9	11,89	0,70	24	21,10	0,39
bE	24	40,00	6,40	87	70,97	3,62
pE	62	97,00	12,62	207	172,07	7,09
oE	12	6,48	4,70	6	11,49	2,62
rE	247	198,63	11,77	304	352,37	6,63
	354	354,00	36,19	628	628,00	20,35

$x^2 = 56,54$ 4 Freiheitsgrade

Der dazugehörige P-Wert beträgt: 10^{-10}

Tab. 2 Signifikanzberechnung, Versuch I, S.E. χ^2-Verfahren
Reifungskurve

	Kontrolle 48h		Zusatz 48h		Kontrolle + Zusatz 48h	
	B	%	A	%	B+A	%
PE	4	1	-	-	4	0,0041
bE	4	1	32	6	36	0,0365
pE	11	3	82	14	93	0,0942
oE	4	1	-	-	4	0,0040
rE	386	94	464	80	850	0,8612
n_1 =	409	100 %	n_2 = 578	100 %	n_3 = 987	1,0000

	B	E	$(B-E)^2/E$	A	E	$(B-E)^2/E$
PE	4	1,68	3,20	-	2,37	2,37
bE	4	14,93	8,00	32	21,10	5,63
pE	11	38,53	19,67	82	54,45	13,93
oE	4	1,63	3,44	-	2,31	2,31
rE	386	352,23	3,23	464	497,77	2,29
	409	409,00	37,54	578	578,00	26,53

$\chi^2 = 64,07$ 4 Freiheitsgrade

Der dazugehörige P-Wert beträgt: 10^{-10}

		S.E. Versuch I Hyperchromie Anaemie		M.S. Versuch II Renale Anaemie Polyneuritis		K.G. Versuch III Hohe BSG, entzündliches Knochenmark		H.M. Versuch IV Entzündung, renale Anaemie		H.K. Versuch V Entzündung, angeregte Erythropoese	
		Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle	Zusatz
G/EI	0^h	3,95		4,64		7,81		2,47		1,70	
	24^h	3,92	2,02	3,07	2,85	3,81	2,95	1,60	1,80	1,19	1,14
	48^h	2,62	1,67	2,67	3,35	2,94	2,87	1,59	2,02	1,41	1,47
	72^h	1,74	1,10	2,31	3,92	3,46	3,13	1,19	1,21	1,59	1,51
	96^h	3,58	0,69	6,59	4,12	7,15	3,18	1,12	0,56		
rMI	0^h	20,80		12,65		9,52		12,70		6,71	
	24^h	19,00	12,30	6,80	24,39	3,81	2,22	8,06	4,71	5,80	3,70
	48^h	---	17,85	---	12,65	---	---	6,25	---	---	---
	72^h	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	96^h	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
wMI	0^h	11,9		10,91		10,37		9,90		11,36	
	24^h	8,97	12,50	7,96	10,72	9,02	11,73	11,57	13,60	13,42	16,66
	48^h	6,95	4,62	6,38	4,78	6,97	2,34	3,55	2,71	6,06	3,33
	72^h	4,40	4,60	---	2,15	3,23	---	---	---	---	---
	96^h	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Tab. 3 G/E-Indices, rote und weiße Mitoseindices.

Bei den Erythropoietin-Serumzusatzkulturen haben wir nicht nur beim Vergleich von Kontrolle und EP-Zusatz, sondern auch mit zunehmender Bebrütungsdauer bis zu 96^h eine Abnahme der G/E-Indices, d.h. unter Erythropoietin-Serumzusatz hat der Anteil der Erythroblasten gegenüber der Granulopoese trotz der starken Ausreifung weiter zugenommen.

C. Mitose-Indices (Tab. 3, Spalte 1)

Der rote Mitoseindex sinkt bei der Kontrolle und ist schon nach 48^h gleich Null.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz fällt zwar der rote Mitoseindex gegenüber dem 24^h-Kontrollwert ab, steigt dann aber bis zu 48^h und ist erst nach 72^h gleich Null.
Die weißen Mitoseindices nehmen sowohl bei der Kontrolle als auch beim Erythropoietin-Serumzusatz ab, und nach 96^h sind keine weißen Mitosen mehr zu verzeichnen.
Unter Ep-Serumzusatz ist nur nach 24^h eine Erhöhung des weißen Mitoseindex festzustellen.

Versuch II, M.S. Normochrome Anaemie bei renaler Insuffizienz.

A. Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und Granulopoese in den Kulturen (Abb. II).

Die Reifungskurve der Erythropoese deckt sich fast mit dem Bild, welches wir schon in Versuch I gefunden haben, nur sind hier die unreifen Erythroblasten mit Ep-Serumzusatz bei längerer Bebrütungszeit noch etwas stärker vertreten.
Die Signifikanzberechnung zeigt folgendes Resultat (Tab.4,5): Der P-Wert des Pat. M.S. ist sowohl bei 24^h als auch bei 48^h kleiner als 0,0027 %. Somit ist die Differenz zwischen den beiden Meßreihen statistisch gut gesichert.

In der Granulopoese haben wir in den Kontrollkulturen eine Rechtsverschiebung bei 24^h wie BOLL und MERSCH (6,8) und RÖHLING (62) fanden, die sich nach Ep-Serumzusatz bei den Jugendlichen und Stabkernigen noch verstärkt. Wechselnde Veränderungen fanden wir mit Erythropoietin-Serumzusatz nach den längeren Bebrütungszeiten.

B. G/E-Indices (Tab. 3, Spalte 2)

Der G/E-Index ist im Ausgangswert etwas erhöht. Er nimmt bei der Kontrolle vom Original bis zu 72^h wieder ab und steigt dann an, d.h. der Anteil der Erythroblasten hat wie üblich gegenüber der Granulopoese trotz der Ausreifung bis 72^h zugenommen, nimmt dann aber stark ab.

Die G/E-Indices beim Erythropoietin-Serumzusatz sind nach 48^h und 72^h geringfügig erhöht, nach 96^h erniedrigt.

C. Mitose-Indices (Tab. 3, Spalte 2).

Der rote Mitoseindex stimmt mit den von BOLL und MERSCH (7) gefundenen Werten überein. Er sinkt aber bei 24^h schon auf die Hälfte und ist ab 48^h bei der Kontrolle gleich Null. Beim Erythropoietin-Serumzusatz haben wir nach 24^h einen stark erhöhten roten Mitoseindex gegenüber dem 24^h-Kontrollwert gefunden; er fällt dann nach 48^h auf 12,7 %, liegt damit aber immer noch viel höher als in der Kontrolle, bei der keine Mitosen mehr gefunden wurden.

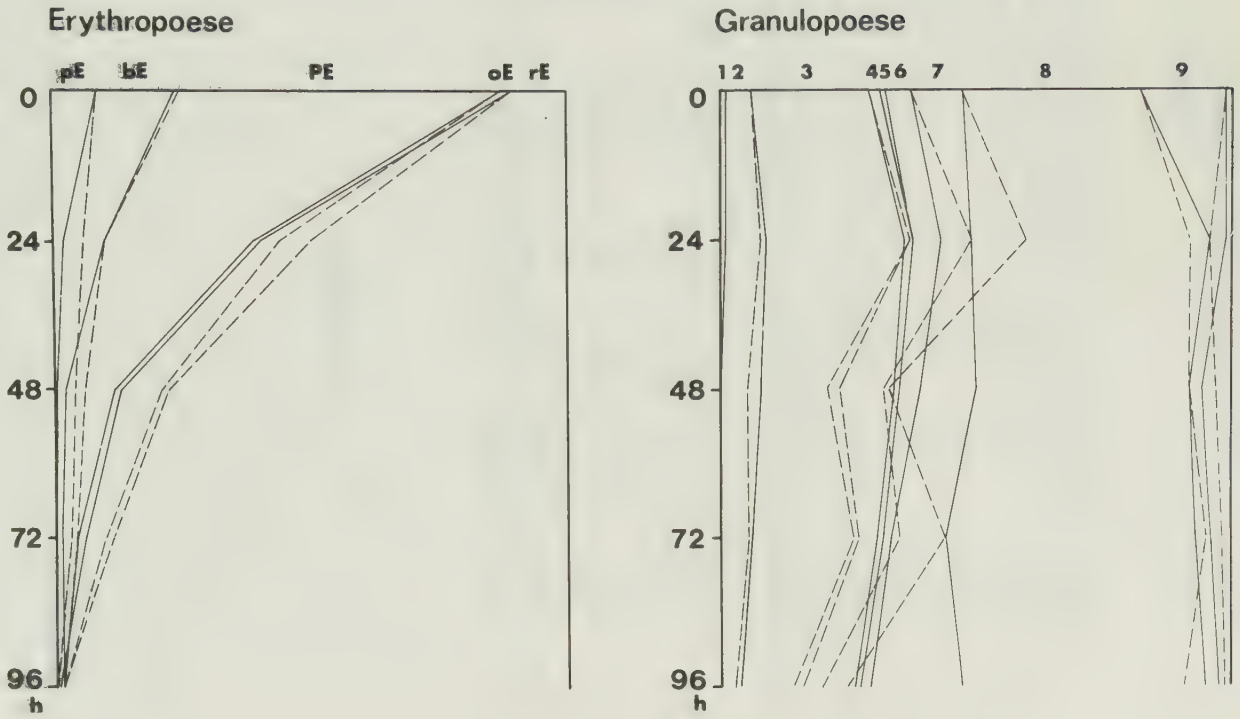
Der weiße Mitoseindex fällt bis zu 48^h bei der Kontrolle und ist nach 72^h gleich Null.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz steigt der weiße Mitoseindex gegenüber dem 24^h-Kontrollwert an, fällt dann bis zu 72^h und ist erst nach 96^h gleich Null.

Abb. II, Versuch II, Reifungskurven M.S.
Normochrome Anaemie bei renaler Insuffizienz.

Kontrolle : ————————

Polyglobulie - Serum : — — — — — —

1 Myelobl. 6 Jgdl.
2 Promyel. 7 Stab.
3 Myeloc. 8 Seg.
4 Eos. 9 Eos.
5 Bas.



Tab. 4 Signifikanzberechnung, Versuch II, M.S. Reifungskurve

	Kontrolle 24h		Zusatz 24h		Kontrolle + Zusatz 24h	
	B	%	B	%	B + B	%
PE	8	2	25	5	33	0,0395
bE	30	8	19	4	49	0,0587
pE	109	28	147	32	256	0,3066
oE	4	1	19	6	23	0,0275
rE	232	61	242	53	474	0,5677
n_1 =	383	100 %	n_2 = 452	100 %	n_3 = 835	1,0000

	B	E	$(B-E)^2/E$	B	E	$(B-E)^2/E$
PE	8	15,13	3,36	25	17,86	2,85
bE	30	22,48	2,51	19	26,53	2,13
pE	109	117,43	0,60	147	138,58	0,51
oE	4	10,53	4,04	19	12,43	3,47
rE	232	217,43	0,97	242	256,60	0,83
	383	383,00	11,48	452	452,00	9,79

$\chi^2 = 21,27$ 4 Freiheitsgrade

P = 0,0003

Tab. 5 Signifikanzberechnung, Versuch II, M.S. Reifungskurve

	Kontrolle 48h		Zusatz 48h		Kontrolle + Zusatz 48h	
	B	%	B	%	B+B	%
PE	2	1	16	4	18	0,0225
bE	8	2	9	2	17	0,0212
pE	44	10	54	15	98	0,1225
oE	4	1	4	1	8	0,0100
rE	371	86	288	78	659	0,8238
n_1 = 429		100 % n_2=371		100 % n_3=800		1,0000

	B	E	$(B-E)^2/E$	B	E	$(B-E)^2/E$
PE	2	9,65	6,06	16	8,34	7,03
bE	8	9,10	0,13	9	7,87	0,16
pE	44	52,55	1,39	54	45,45	1,60
oE	4	4,29	0,01	4	3,71	0,02
rE	371	353,41	0,87	288	305,63	1,01
	429	429,00	8,46	371	371,00	9,82

$\chi^2 = 18,28$ 4 Freiheitsgrade

P = 0,001

Versuch III, K.G. Infektanaemie.

A. Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und Granulopoese in den Kulturen (Abb. III).

In der Erythropoese finden wir bei Erythropoietin-Serumzusatz im Gegensatz zu Versuch I und II eine starke Rechtsverschiebung, d.h. es kommt durch den Ep-Serumzusatz zu einer relativen Verminderung der teilungsfähigen Erythroblasten, die reifen Erythroblasten nehmen dementsprechend zu. Die Signifikanzberechnung (Tab. 6,7) zeigt folgendes Resultat: Der P-Wert der Versuchsreihe K.G. ist sowohl bei 24^h als auch bei 48^h kleiner als 0,0027 %.
Somit ist die Differenz zwischen beiden Meßreihen statistisch gut gesichert.

In der Granulopoese mit besonders hohem Anteil reifer Granulozyten können wir eine Linksverschiebung bei 24^h wie BOLL, MERSCH (6,8) und RÖHLING (62) finden.
Unter Erythropoietin-Serumzusatz zeigt sich eine Rechtsverschiebung nach 24^h und weist dann wechselnde Veränderungen bis zu 96^h auf.

B. G/E-Indices (Tab. 3, Spalte 3).

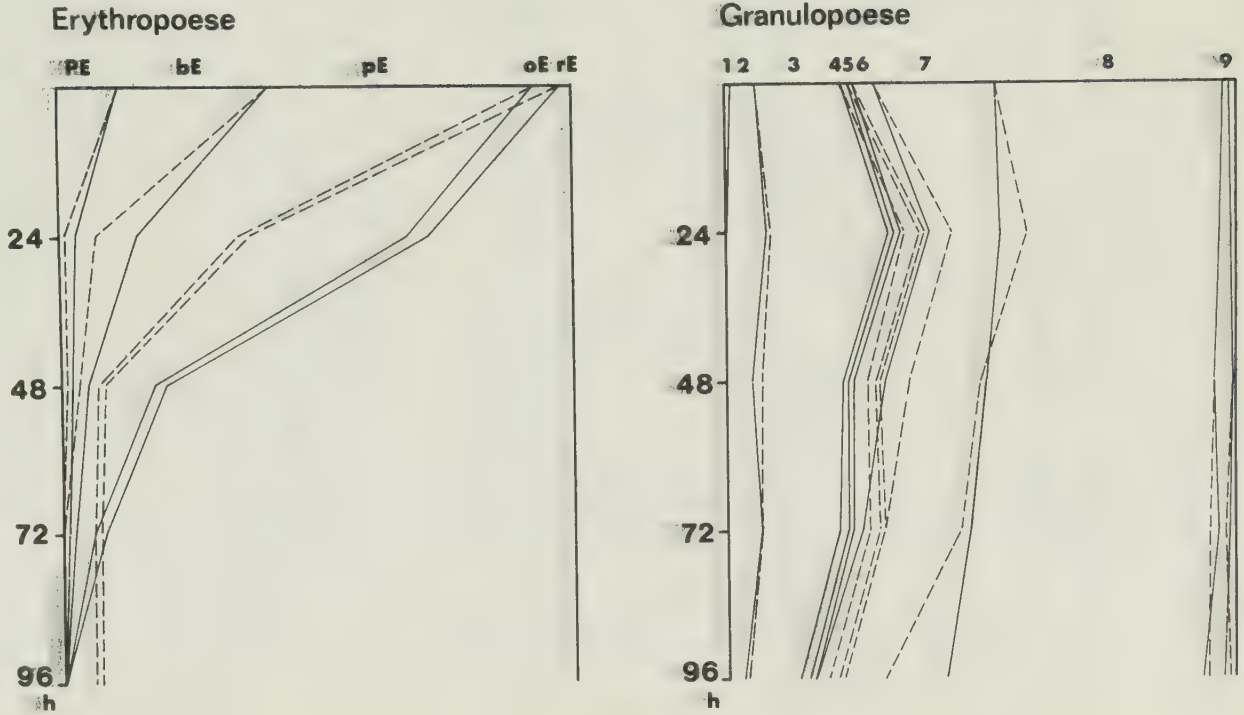
Der anfangs sehr hohe G/E-Index ist auf eine Vermehrung der Granulopoese zurückzuführen. Besonders die stab- und segmentkernigen Granulozyten sind vermehrt; ihre Zahl ist höher als in der Literatur (7,8) angegeben.
Die Abnahme der G/E-Indices bei den Kontrollen bis zu 72^h und der Anstieg nach 96^h wurde schon in Versuch I und II beobachtet.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz ist der G/E-Index vermindert, nach 96^h steigt er nicht an, es kommt also trotz vermehrter Reifung durch das Fremdserum zu keiner Vermehrung von Erythroblasten während der ganzen Kulturzeit.

Abb. III, Versuch III, K.G. Reifungskurven
Infektanaemie

Kontrolle : ——————

Polyglobulie - Serum : — — — — — — —

1 Myelobl. 6 Jgdl.
2 Promyel. 7 Stab.
3 Myeloc. 8 Seg.
4 Eos. 9 Eos.
5 Bas.



Tab. 6 Signifikanzberechnung, Versuch III, K.G. x^2-Verfahren
Reifungskurve

	Kontrolle 24h		Zusatz 24h		Kontrolle + Zusatz 24h	
	B	%	A	%	B + A	%
PE	13	3	7	1	20	0,0246
bE	42	12	26	6	68	0,0838
pE	192	53	126	29	318	0,3916
oE	16	4	6	1	222	0,0271
rE	100	28	284	63	384	0,4729
n_1 = 363		100 % n_2=449		100 % n_3=812		1,0000

	B	E	$(B-E)^2/E$	A	E	$(B-E)^2/E$
PE	13	8,93	1,85	7	11,04	1,47
bE	42	30,42	4,40	26	37,63	3,59
pE	192	142,15	17,48	126	175,83	14,12
oE	16	9,84	3,85	6	12,17	3,12
rE	100	171,66	29,91	284	212,33	24,19
	363	363,00	57,49	449	449,00	46,49

$x^2 = 103,98$ 4 Freiheitsgrade

Der dazugehörige P-Wert beträgt: 10^{-10}

Tab. 7 Signifikanzberechnung, Versuch III, K.G. χ^2-Verfahren
Reifungskurve

	Kontrolle 48^h		Zusatz 48^h		Kontrolle + Zusatz 48^h	
	B	%	A	%	B + A	%
PE	12	2	4	1	16	0,0177
bE	14	3	10	2	24	0,0265
pE	58	12	18	4	76	0,0839
oE	8	2	4	1	12	0,0132
rE	388	81	390	92	778	0,8587
n_1 = 480		100 %	n_2=426	100 %	n_3 = 906	1,0000

	B	E	$(B-E)^2/E$	A	E	$(B-E)^2/E$
PE	12	8,50	1,44	4	7,54	1,66
bE	14	12,72	0,12	10	11,29	0,14
pE	58	40,27	7,80	18	35,74	8,80
cE	8	6,34	0,43	4	5,62	0,46
rE	388	412,17	1,43	390	365,81	1,59
	480	480,00	11,22	426	426,00	12,65

$\chi^2 = 23,87$ 4 Freiheitsgrade

Der dazugehörige P-Wert beträgt: 0,0003

C. Mitose-Indices (Tab. 3, Spalte 3).

Der rote Mitoseindex sinkt bei der Kontrolle und ist nach 48^h gleich Null.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz fällt der 24^h-Mitose-Index gegenüber der Kontrolle weiter und nach 48^h sind ebenfalls keine Erythroblasten-Mitosen mehr zu verzeichnen.
Die weißen Mitoseindices verhalten sich wie in Versuch II, sie nehmen sowohl bei der Kontrolle als auch beim Erythropoietin-Serumzusatz ab. Nur nach 24^h ist unter Ep-Serumzusatz eine Erhöhung des weißen Mitoseindex festzustellen.

Versuch IV, H.M. Renale Anaemie.

A. Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und Granulopoese in den Kulturen (Abb. IV).

Beim Vergleich von Kontrolle und Erythropoietin-Serumzusatz zeigt die Reifungskurve der Erythropoese keine Änderung der Ausreifung.
In der wieder sehr ausgereiften Granulopoese finden wir die schon aus den Versuchen I bis III bekannte abnehmende Tendenz der teilungsfähigen Zellen; etwas geringer mit Ep-Zusatz.

B. G/E-Indices (Tab. 3, Spalte 4).

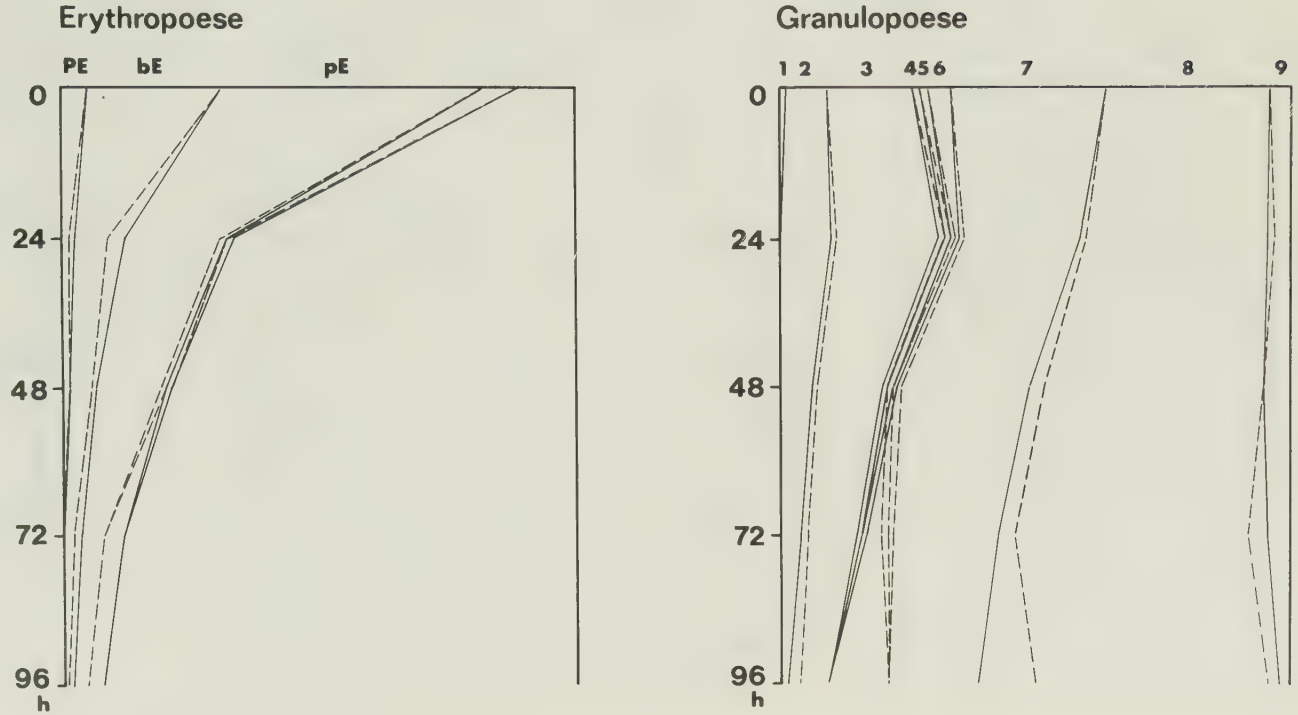
Der G/E-Index nimmt bei der Kontrolle bis zu 96^h ab, d.h. prozentual nehmen die Erythroblasten zu. Die Schwankungen des G/E-Index, die wir in Versuch I bis III gefunden haben, können wir hier nicht feststellen.
Nur nach Erythropoietin-Serumzusatz schwankt der G/E-Index geringfügig, zeigt aber diesselbe Tendenz wie die Kontrollen.

Abb. IV, Versuch IV, H.M. Reifungskurven
Renale Anaemie

Kontrolle : ——————

Polyglobulie - Serum : - - - - - - - - - -

1 Myelobl. 6 Jugdl.
2 Promyel. 7 Stabk.
3 Myeloc. 8 Segm.
4 eos. 9 eos.
5 bas.



C. Mitose-Indices (Tab. 3, Spalte 4).

Der rote Mitoseindex nimmt bei der Kontrolle ab und ist nach 72^h gleich Null.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz sinkt der rote Mitoseindex weiter und ist schon nach 48^h gleich Null, d.h. unter Ep-Serumzusatz ist eine weitere Hemmung der Mitosefähigkeit eingetreten.
Die weißen Mitoseindices nehmen sowohl bei der Kontrolle als auch beim Ep-Serumzusatz bis zu 24^h zu, um dann wieder abzunehmen (6,8). Nach 72^h fanden wir bei der Kontrolle und beim Fremdserumzusatz keine weißen Mitosen mehr.

Versuch V, H.K. Angeregte Erythropoese bei chronischer Entzündung.

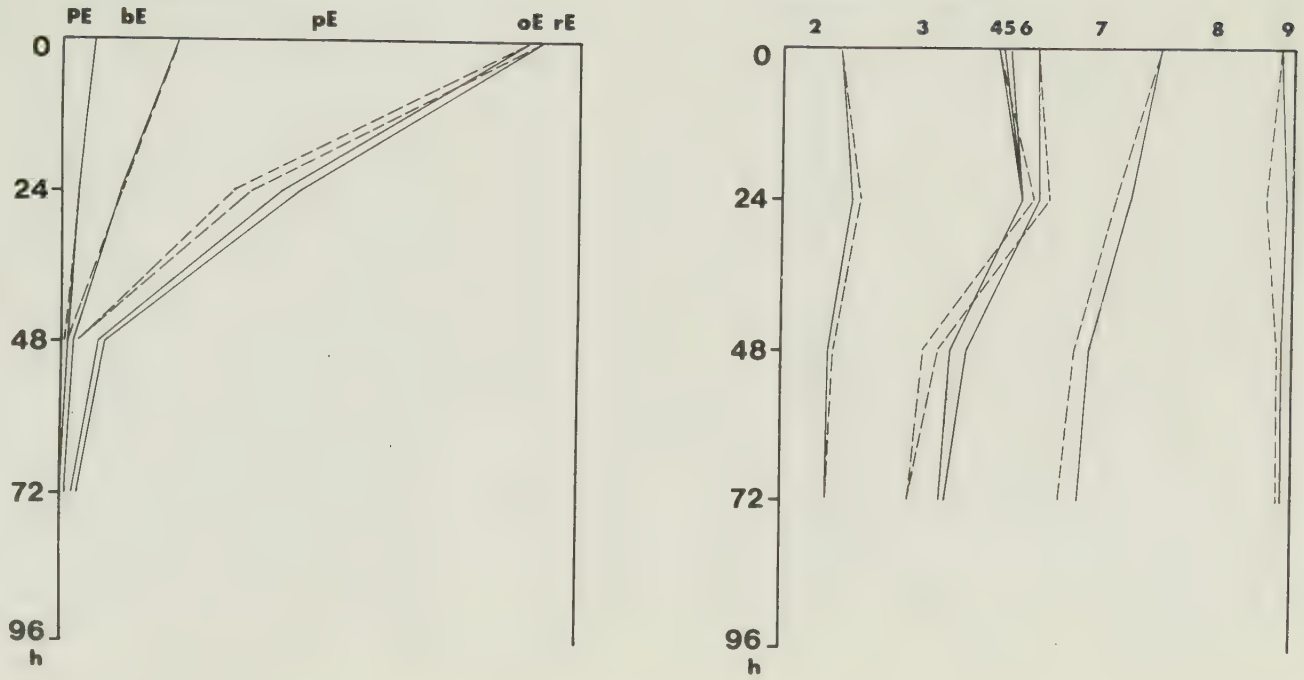
A. Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und Granulopoese in den Kulturen (Abb. V).

Wie wir aus der Reifungskurve der Erythropoese ersehen, kommt es bei den Kontrollen zu einer progressiven Abnahme der teilungsfähigen Erythroblasten und Zunahme der reifen Erythroblasten, die nach 72^h als einzige Erythroblasten vorkommen.
Unter Erythropoietin-Serumzusatz tritt eine weitere relative Abnahme der teilungsfähigen Erythroblasten ein; die reifen Erythroblasten nehmen dementsprechend stärker zu. Die geringe Depression der teilungsfähigen Erythroblasten nach Ep-Serumzusatz ist nicht signifikant.
In diesem Versuch finden wir bei der Granulopoese, wie auch in den vorangegangenen 4 Versuchen, eine geringe Rechtsverschiebung bei 24^h, später eine abnehmende Tendenz der teilungsfähigen Zellen. Nach Erythropoietin-Serumzusatz ist diese stärker ausgeprägt.

Abb. V, Versuch V, H.K., Reifungskurven
Angeregte Erythropoese bei chronischer Entzündung.

Kontrolle : ————————
Polyglobulie Serum : — — — — — —

1 Myelobl. 7 Stabk.
2 Promyel. 8 Segm.
3 Myeloc. 9 Eos.
4 eos.
5 bas.
6 Jugdl.



B. G/E-Indices (Tab. 3, Spalte V).

Der G/E-Index fällt bei der Kontrolle nach 24^h, um dann bis zu 72^h wieder leicht anzusteigen.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz ist keine Veränderung gegenüber den Kontrollen zu verzeichnen.

C. Mitose-Indices (Tab. 3, Spalte V).

Der ausgangs schon bei relativer Vermehrung der Erythroblasten (G/E = 1) sehr niedrige rote Mitoseindex sinkt bei der Kontrolle weiter und ist nach 48^h gleich Null.
Unter Erythropoietin-Serumzusatz fällt der rote Mitoseindex nach 24^h noch stärker und ist ebenfalls nach 48^h gleich Null.
Der weiße Mitoseindex nimmt, wie schon in Versuch IV, sowohl bei der Kontrolle als auch beim Erythropoietin-Serumzusatz bis zu 24^h zu, um dann wieder abzunehmen.
Keine weißen Mitosen fanden wir bei Kontrolle und Ep-Serumzusatz nach 72^h.

Tab. 8 Große und kleine Retikulumzellen in ‰.

A. Große Retikulumzellen. K = Kontrolle / Z = Zusatz

Versuch:	1	2	3	4	5	Mittelwerte
Std.	K / Z	K / Z	K / Z	K / Z	K / Z	K / Z
0	90	120	43	84	83	84
24	43/100	89/82	61/38	110/78	89/84	78/76
48	75/100	136/89	33/35	124/74	104/75	94/75
72	55/114	127/105	69/61	130/90	120/134	100/101
96	150/120	192/118	145/67	236/216	-/-	181/130

B. Kleine Retikulumzellen. K = Kontrolle / Z = Zusatz.

0	40	71	26	39	78	51
24	25/90	67/62	42/76	64/49	82/74	56/70
48	38/96	82/72	38/71	74/42	85/66	63/69
72	32/100	75/83	77/70	92/76	90/94	73/85
96	144/110	178/150	197/104	130/116	-/-	162/120

Die Retikulumzellzahl weist große Unterschiede nicht nur in den einzelnen Versuchen (Tab. 8), sondern auch beim Vergleich von Kontrolle und Zusatz der einzelnen Patienten auf. Eine leichte Depression bei Kontrolle und Zusatz finden wir im Mittel bei den großen Retikulumzellen nach 24^h (Abb. VI), wie sie TROESTER (71) auch gefunden hat.

Die Mittelwerte der kleinen Retikulumzellen (Abb. VI) zeigen bei Kontrolle und Zusatz einen gleichmäßigen Anstieg bis zu 72^h.

Vergleicht man die Mittel der großen und kleinen Retikulumzellen von Kontrolle und Zusatz, so fällt nach Erythropoietin-Serumzusatz ein leichtes Absinken der gr. Retikulumzellen auf, die kl. Retikulumzellen nehmen dementsprechend zu. Auffallend ist die verstärkte Depression der kl. und gr. Retikulumzellen erst nach Fremdserumzusatz bei 96^h.

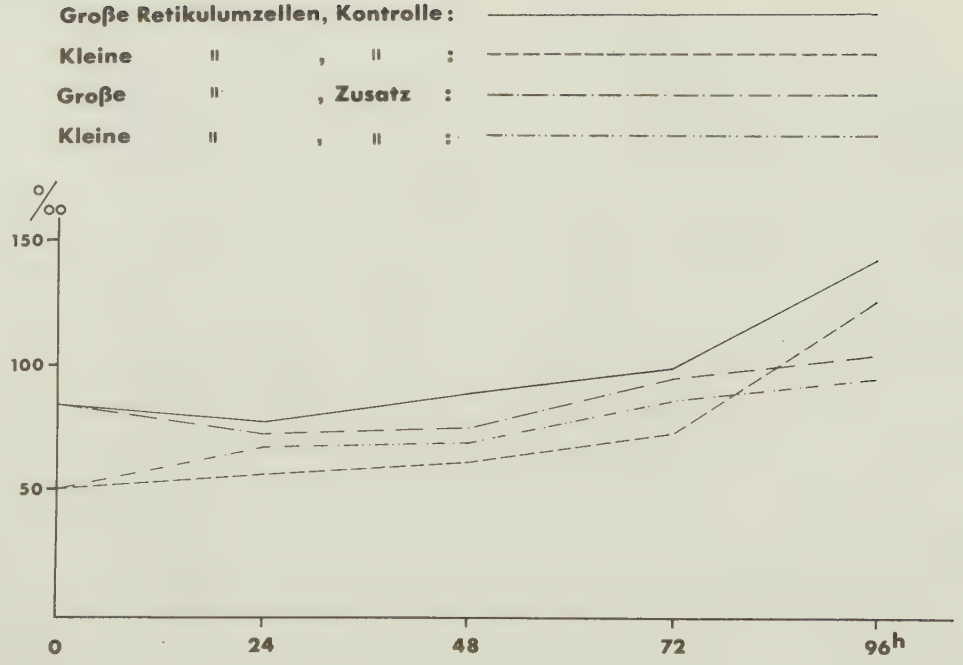


Abb. VI Retikulumzellen, Mittelwerte aus 5 Versuchen

Mittelwerte der Reifungskurven aus 5 Versuchen (Abb. VII).

Die gemittelten Originalausstriche der Erythropoese zeigen nur geringe Abweichungen gegenüber den zusammengestellten Normalwerten von BOLL (7).
Die unreifen Erythroblasten nehmen mit fortschreitender Bebrütungsdauer ab. Ihr Minimum ist nach 96^h erreicht. Die Proerythroblasten werden nach 72^h prozentual nicht mehr erfaßt. Die reifen Erythroblasten haben dementsprechend zugenommen. Auch nach Erythropoietin-Serumzusatz ist keine Veränderung der Kurve festzustellen. Die Differenz zwischen beiden Mittelwertskurven beträgt maximal 2 %.
Die Granulopoese zeigt nach 24^h eine Linksverschiebung, die nach 48^h wieder abklingt, entsprechend BOLL und MERSCH (8). Die unreifen Zellen nehmen zugunsten der reifen Granulocyten bis zu 96^h über den Ausgangswert weiter ab.
Nach Erythropoietin-Serumzusatz ist kaum eine Änderung der Mittelwertskurve festzustellen. Die maximale Divergenz beträgt 3 %.

Zusammenfassung der Mitose-Indices aus 5 Versuchen (Abb. VIII).

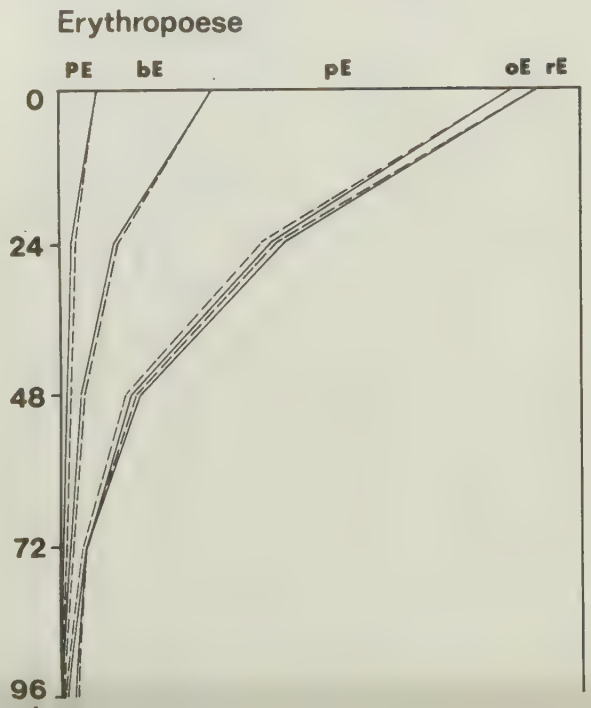
In der Erythropoese liegen die mittleren Mitoseindices des Originalausstriches bei 12,6 ‰. Sie sinken mit zunehmender Bebrütungszeit bei den Kontrollkulturen stärker ab als bei den Erythropoietin-Serumzusatzkulturen.
Die 48^h-Kontrollkultur hat einen mittleren roten Mitoseindex von 1,3 ‰, die 48^h-Erythropoietin-Serumzusatzkultur von 6 ‰. Wie die Signifikanzberechnung zeigt (Tab. 9), ist die Differenz zwischen den Meßreihen wegen zu kleiner Zahlen zufallsbedingt.
Der mittlere weiße Mitoseindex in der Granulopoese zeigt einen leichten Anstieg vom Original zu den 24^h-Kontroll- und Ep-Serumzusatzkulturen. Dies ist auf die verstärkte Mitosehäufigkeit der Granuloblasten am 1. Kulturtag zurückzuführen (8,62). Er nimmt dann bis zu 96^h kontinuierlich ab. Die Signifikanzberechnung nach 48^h zeigt auch hier, daß die Differenz wegen zu kleiner Zahlen zufallsbedingt ist (Tab. 10).

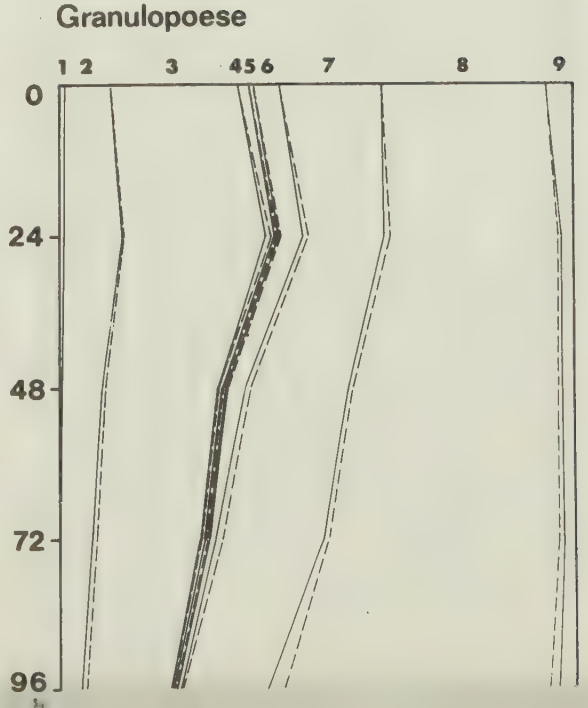
Abb. VII Mittelwerte der Reifungskurven aus 5 Versuchen

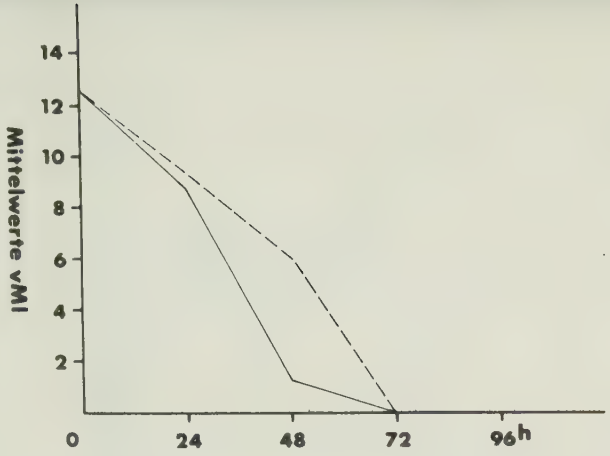
Kontrolle : ——————

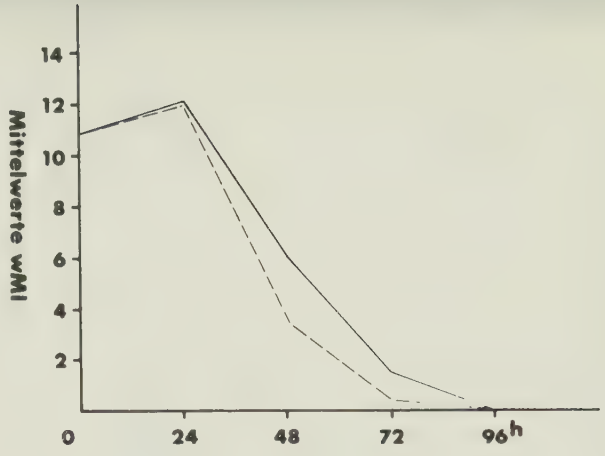
Polyglobulie - Serum : — — — — — — —

1 Myelobl. 6 Jgdl.
2 Promyelo. 7 Stabk.
3 Myeloc. 8 Segm.
4 Eos. 9 Eos.
5 Bas.









Kontrolle : ——————

Polyglobulie - Serum : – – – – – – –

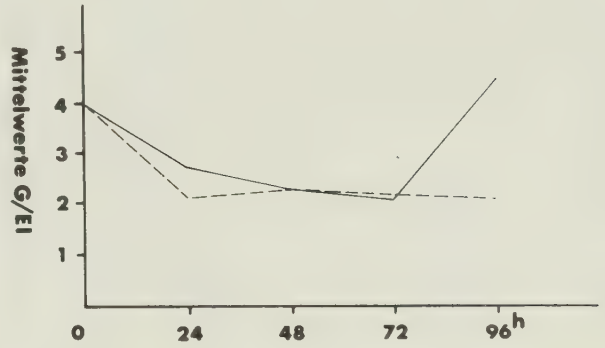


Abb. VIII,

Mittelwerte der roten und weißen Mitoseindices so wie der G/E - Indices in ‰.

Tab. 9 Signifikanzberechnung der roten Mitosen nach 48^h aus 5 Versuchen

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Kontrolle:	1	388	389	2,0	387
Zusatz :	3	396	399	2,0	397
Summe :	4		788		

B_M = Beobachtungswert - Mitosen
B_N = Beobachtungswert - Nichtmitosen
E_M = Erwartungswert - Mitosen
E_N = Erwartungswert - Nichtmitosen

Berechnung von E_M:

$$= \frac{\text{Summe der Mitosen (Kontrolle + Zusatz)}}{\text{Summe der Gesamtzellen}} \times B_{M+N}\text{Kontr., Zusatz}$$

Berechnung von E_N: $B_{M+N} - E_M$

Kontrolle: $E_M = \frac{4}{788} \times 389 = 2,0$

$E_N = 389 - 2,0 = 387,0$

Zusatz : $E_M = \frac{4}{788} \times 399 = 2,0$

$E_N = 399 - 2,0 = 397,0$

Berechnung von χ^2: $\chi^2 = \frac{(B - E)^2}{E}$

	$B_{M,N}-E_{M,N}$	$(B_{M,N}-E_{M,N})^2$	$\frac{(B_{M,N}-E_{M,N})^2}{E_{M,N}}$
Kontrolle:	- 1,0	1	0,5000
	1,0	1	0,0025
Zusatz :	1,0	1	0,5000
	- 1,0	1	0,0025
			$\chi^2 = 1,0050$

Ein Freiheitsgrad. Der dazugehörige P-Wert beträgt 0,34. Damit ist die Differenz zwischen beiden Meßreihen zufallsbedingt.

Tab. 10 Signifikanzberechnung der weißen Mitosen nach 48^h aus 5 Versuchen

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Kontrolle:	13	2074	2087	10,36	2076,64
Zusatz :	7	1936	1943	9,64	1933,36
Summe :	20		4030		

Berechnung von E_M bzw. E_N:

Kontrolle: $E_M = \frac{20}{4030} \times 2087 = 10,36$

$E_N = 2087 - 10,36 = 2076,64$

Zusatz : $E_M = \frac{20}{4030} \times 1943 = 9,64$

$E_N = 1943 - 9,64 = 1933,36$

Berechnung von χ^2:

Kontrolle:	2,64	6,97	0,672
	2,64	6,97	0,003
Zusatz :	2,64	6,97	0,723
	2,64	6,97	0,003

$\chi^2 = 1,401$

Ein Freiheitsgrad. Der dazugehörige P-Wert beträgt 0,16. Damit ist die Differenz zwischen beiden Meßreihen zufallsbedingt.

Zusammenfassung der G/E-Indices aus 5 Versuchen (Abb. VIII).

Die mittleren G/E-Indices sinken vom Original bei der Kontrolle und dem Erythropoietin-Serumzusatz bis zu 72^h leicht ab, d.h. der Anteil der Erythroblasten hat gegenüber der Granulopoese trotz der Ausreifung zugenommen. Diese Tatsache wird auf die Verminderung der Granulozyten infolge ihrer kurzen Lebensdauer (6,8,26) und auf die Entkernungshemmung der reifen Erythroblasten in vitro zurückgeführt (7).
Als Zeichen der bis zu den Erythrozyten erfolgten Ausreifung der Erythropoese kommt es am 4. Kulturtag wieder zu einem Anstieg des G/E-Index (7). Diesen Anstieg des G/E-Index nach 96^h haben wir nach Erythropoietin-Serumzusatz nicht feststellen können.
Der P-Wert der Signifikanzberechnung nach 24^h (Tab. 11) ist größer als 0,05 ‰. Somit ist die Differenz zwischen den beiden Meßreihen zufallsbedingt; im Gegensatz dazu ist der P-Wert nach 96^h kleiner als 0,0027 ‰. Damit ist die Differenz zwischen den beiden Meßreihen nunmehr statistisch gut gesichert (Tab. 12).

Karyologische Kurven (Abb. IX).

In den karyologischen Kurven wird die Verteilung der Mitosephasen dargestellt.
Unsere Ergebnisse stimmen in der Erythropoese weitgehend mit den Untersuchungen von BOLL und MERSCH (7) überein. Auch in der Granulopoese finden wir eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen, wie sie BOLL und MERSCH (8) in ihren karyologischen Kurven aller Granuloblasten-Mitosen der normalen und angeregten Granulopoese zu allen Kulturzeiten fanden.
Der Erythropoietin-Serumzusatz ergab keine deutlichen Abweichungen.

Tab. 11 Signifikanzberechnung des mittleren G/E-Index nach 24^h aus 5 Versuchen

	B_G	B_E	B_{G+E}	E_G	E_E
Kontrolle:	1218	525	1743	1192	551
Zusatz :	1190	588	1778	1216	562
Summe :	2408		3521		

Berechnung von E_G bzw. E_E :

Kontrolle: $E_G = \frac{2408}{3521} \times 1743 = 1192$

$E_E = 1743 - 1192 = 551$

Zusatz : $E_G = \frac{2408}{3521} \times 1778 = 1216$

$E_E = 1778 - 1216 = 562$

Berechnung von χ^2 :

Kontrolle:	26	676	0,57
	26	676	1,23
Zusatz :	26	676	0,55
	26	676	1,20
		χ^2 =	3,55

Ein Freiheitsgrad. Der dazugehörige P-Wert beträgt 0,052. Damit ist die Differenz zwischen den beiden Meßreihen zufallsbedingt.

Tab. 12 Signifikanzberechnung des mittleren G/E-Index nach 96^h aus 5 Versuchen

	B_G	B_E	B_{G+E}	E_G	E_E
Kontrolle:	1116	375	1491	1003	488
Zusatz :	684	500	1184	797	387
Summe :	1800		2675		

Berechnung von E_G bzw. E_E :

Kontrolle: $E_G = \frac{1800}{2675} \times 1491 = 1003$

$E_E = 1491 - 1003 = 488$

Zusatz : $E_G = \frac{1800}{2675} \times 1184 = 797$

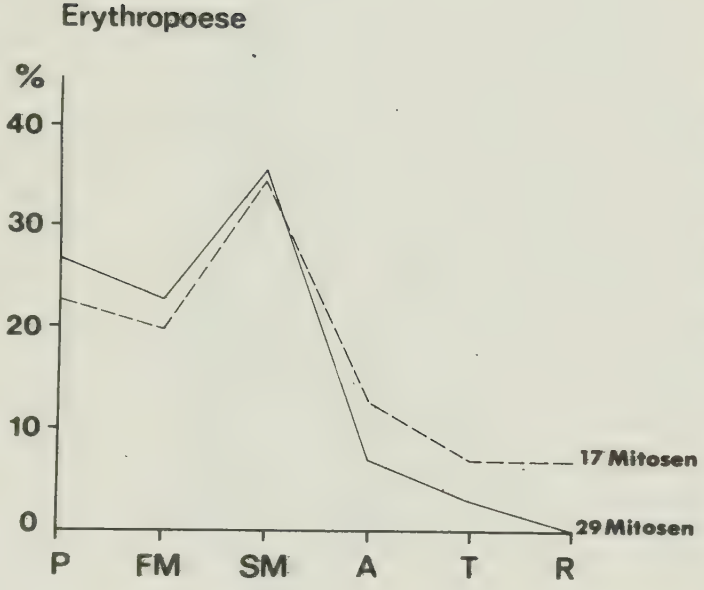
$E_E = 1184 - 797 = 387$

Berechnung von χ^2 :

Kontrolle:	113	12769	12,7
	113	12769	26,1
Zusatz :	113	12769	16,0
	113	12769	32,9

$\chi^2 = 87,7$

Ein Freiheitsgrad.
Der dazugehörige P-Wert ist kleiner als 10^{-10}, damit ist die Differenz zwischen beiden Meßreihen statistisch gut gesichert.



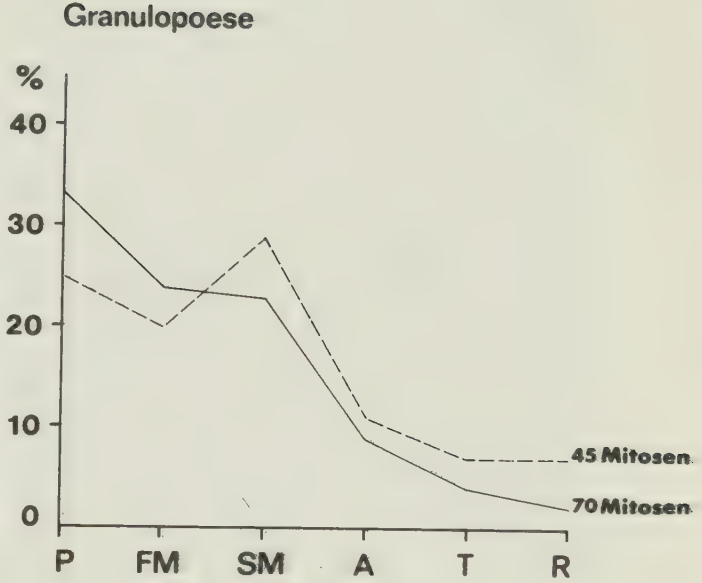


Abb. IX, Karyologische Kurven der Erythropoese und Granulopoese in %

Kontrolle : ————

Zusatz : - - - - - - -

Diskussion:

Die in der Literatur beschriebenen Versuche über die Wirkung von Erythropoietin wurden fast ausschließlich in vivo durchgeführt. Als Testobjekte dienten Tiere, deren Erythropoese durch die Versuchsbedingungen reduziert wurde (14,30). Neben diesen Untersuchungen an lebenden Tieren wurde auch deren Knochenmark in Kultur mit verschiedenen Methoden untersucht. Erythropoietin setzte ERSLEV (18) seinen Knochenmarkkulturen zu und fand, daß mit der Menge des zugesetzten Erythropoietins auch die FE-59-Aufnahme im Knochenmark wuchs.
MATOTH (48) und MATOTH und PORATH (49) benutzten Kulturen aus Kaninchenknochenmark. Nach Zugabe von erythropoietinhaltigem Serum verschiedener Herkunft und einer Bebrütungsdauer von 5^h zeigte sich eine Vermehrung der Erythroblastenmitosen; durch normales Serum gab es keine Reaktion. REISNER jr. (58) hat 20 % menschliches Serum mit 80 % NCTC 109 6-7 Tage mit Polycythämie-Serum kultiviert. Obgleich nicht alle Polycythämie-Kranken einen erhöhten Erythropoietinspiegel hatten, ergab die Auswertung der Knochenmarkkulturen eine Stimulierung der Erythropoese durch das Serum. Menschliches Knochenmark hat REISNER jr. (59) in einem weiteren Versuch mit FE-59 versetzt, Erythropoietin, Testosteron, Ca^{++}-, K^+-Ionen und 11-keto-pregnenolone dazugegeben; auch hier fand er eine Stimulierung der Erythropoese.
Bei unseren Versuchen hatten wir im Koagulum eine Erythropoietinkonzentration von 0,1 IE/ml. Wir müssen davon ausgehen, daß also ein mäßig erhöhter Erythropoietingehalt zugrunde gelegt werden muß.
In der Erythropoese ist die Regeneration bei Erythropoietin-Serumzusatz nach 48^h vermehrt (Abb. VIII), da der rote Mitoseindex erhöht ist und die karyologischen Kurven (Abb. IX) keinen deutlichen Unterschied zeigen.

Bei den Reifungskurven der Erythropoese zeigt sich in allen Kontrollversuchen die zeitabhängige Verminderung der teilungsfähigen Erythroblasten. Diese beschleunigte Ausreifung hat auch TROESTER (71) gefunden; sie liegt über den von BOLL (7) angegebenen Werten, die aus Versuchen mit Hank's-Lösung im Medium gewonnen wurden, nicht wie unsere mit Serumzusatz.

Nach Erythropoietin-Serumzusatz zeigen sich unterschiedliche Ergebnisse. In Versuch I und II (eine hyperchrome und eine renale Anaemie) können wir nach Erythropoietin-Serumzusatz eine signifikante Vermehrung der teilungsfähigen Erythroblasten feststellen; die reifen Erythroblasten nehmen dementsprechend prozentual ab. Trotzdem bleibt die Erythropoese im ganzen vermehrt, wie aus den G/E-Indices (Tab. 3, Abb. I, II) hervorgeht.

Diese Stimulierung der Erythropoese nach Erythropoietin-Serumzusatz ist aus der Literatur bekannt und eingangs schon beschrieben worden (18,48,49,58,59).

Versuch III mit anfangs schon verminderter Erythropoese und Versuch V zeigen eine signifikante Depression der teilungsfähigen Erythroblasten nach Erythropoietin-Serumzusatz zugunsten der reifen Erythroblasten. Hierfür könnten Hemmfaktoren verantwortlich gemacht werden. Aus der Literatur ist zu ersehen, daß über diese Hemmfaktoren eine Vielzahl von Theorien aufgestellt worden sind (22,33,60,62,64,68,69,76,77). Welche Faktoren für die Depression der Erythropoese nach Fremdserumzusatz bei diesen Knochenmarkproben von Patienten mit einer erhöhten BSG ungeklärter Ätiologie und einem entzündlichen Knochenmarkbefund von Bedeutung sind, kann mit unserer Methode nicht beantwortet werden.

Versuch IV, ebenfalls von einer Markprobe bei einer chronischen Entzündung, ergab keine Änderung der erythropoetischen Ausreifung nach Erythropoietin-Serumzusatz.

Zusammenfassend kann gesagt werden: In der Erythropoese waren nur in 2 von 5 Fällen durch den erhöhten Erythropoietingehalt im Medium die teilungsfähigen Zellen relativ vermehrt, aber im Mittel wurde bei allen der Mitoseindex nach 48^h erhöht, so daß bei unveränderter karyologischer Kurve die Regeneration in vitro länger anhielt, als in den Vergleichskurven. Nach 96^h war die Erythropoese (nach dem G/E-Index) (Abb. VIII, Tab. 12) signifikant weit weniger verringert als in den Kontrollen, so daß von einer längeren Stimulierung der Erythropoese durch den Erythropoietin-Serumzusatz gesprochen werden muß (58,59).

Beim Vergleich der kleinen und großen Retikulumzellen von Kontrolle und Fremdserumzusatz lassen sich keine großen Unterschiede feststellen, so daß eine Beeinflussung durch den Erythropoietin-Serumzusatz unwahrscheinlich bleibt (Abb. VI, Tab. 8).

Bei der Granulopoese wird die Regeneration durch den Erythropoietin-Serumzusatz nicht wesentlich verändert. Versuch II bis V ergeben in der Granulopoese die von BÖLL und MERSCH (7,8) sowie RÖHLING (62) bekannte Linksverschiebung nach 24^h, die man mit einer verstärkten Mitosehäufigkeit der weißen Mitosen am 1. Kulturtag erklären kann (6), wie wir sie auch sehen (Abb. II bis V), und mit einer verstärkten Regeneration der in Kultur gesetzten Segmentkernigen (6,62). Der Versuch I verhält sich typisch wie Megaloblastenmark differierend (6,8).

Durch Zusatz des Serums mit erhöhtem Erythropoietingehalt haben wir in der Granulopoese keine wesentliche Änderung gefunden. Nur nach 48^h findet sich eine gewisse, aber nicht signifikante Mitoseverminderung. Auch die karyologischen Kurven decken sich weitgehend und entsprechen den Angaben von BÖLL (7,8).
Auch in der Literatur finden sich weiter keine Angaben über eine Beeinflussung der Granulopoese.

Die Anzahl der gefundenen Megakaryozyten, Monozyten und Plasmazellen war in den Kontrollkulturen und unter Erythropoietin-Serumzusatz so gering, daß sich keine Aussagen darüber machen lassen.

Zusammenfassung:

Aus den Sternalpunktaten von 5 Patienten wurden Koagulumkulturen angelegt und als Kontrolle sowie mit Zusatz von Serum mit einem leicht erhöhten Erythropoietingehalt inkubiert. Von diesen Kulturen wurden dann Knochenmarkausstriche angefertigt. Aufgrund der Differentialzählung einschließlich der Mitosen im Originalausstrich und bis zu 4 Tagen in der Koagulumkultur wurden erstellt: Reifungskurven, G/E-Indices, rote und weiße Mitoseindices, karyologische Kurven, Kurven über die prozentuale Verteilung der Retikulumzellen zu den einzelnen Kulturzeiten sowie die notwendigen Signifikanzberechnungen.
Die Regeneration der Erythropoese wies durch den Erythropoietin-Serumzusatz eine Stimulierung nach 48^{h} auf, die der Granulopoese zeigte keine Veränderung. Die Reifung der Erythropoese verhielt sich in vitro unterschiedlich, die der Granulopoese und auch die Zahl der Retikulumzellen waren nach Serumzusatz mit mäßig erhöhtem Erythropoietin-Gehalt nicht verändert.

Frau Professor Dr. med. I. Boll möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und ihre jederzeit freundliche und fachkundige Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit danken.

Herrn Professor Dr. H. J. Belitz danke ich für die Unterweisung und Prüfung der Signifikanzberechnung.

Lebenslauf

Am 25.1.1926 bin ich, Horst Eisold, als Sohn des Ingenieurs Franz Eisold und seiner Ehefrau Frieda, geb. Grigoleit, in Gerdauen/Ostpr. geboren.
Mit meinem 10. Lebensjahr trat ich in das Kaiser-Wilhelm-Gymnasium zu Osterode ein.
Hier legte ich am 18.6.1944 mein Notabitur ab und wurde anschließend zur Luftwaffe eingezogen.
Um studieren zu können, besuchte ich vom 18.10.1948 bis zum 16.7.1950 die Vorstudienanstalt der Universität Leipzig.
Das Reifezeugnis dieser Anstalt erhielt ich am 16.7.1950.
Am 4.10.1950 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Leipzig.
Hier legte ich am 24.9.1952 die ärztliche Vorprüfung Teil I ab.
Danach ging ich nach Westberlin.
Die Immatrikulation an der medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin erfolgte am 24.11.1953.
Wegen der Verschlimmerung einer im Kriege erlittenen Verwundung mußte ich mich am 11.5.1956 exmatrikulieren lassen.

Nach mehrjährigen Krankenhausaufenthalt ließ ich mich erneut an der FU Berlin am 14.10.1963 einschreiben.
Da ein Onkel von mir mir seine Zahnarztpraxis angeboten hat, habe ich mich auf die Fachschaft Zahnmedizin umschreiben lassen.

Die zahnärztliche Vorprüfung Teil II (Physikum) legte ich am 18.10.1966 mit 'gut' ab.
Mein Staatsexamen bestand ich am 31.10.1969 mit dem Urteil 'gut'.
Die Bestallung als Zahnarzt erhielt ich am 14.11.1969 und arbeite seit dieser Zeit in einer Zahnarztpraxis.

Literaturverzeichnis

1. ABBRECHT, P.H. and R.L. MALVIN : Renal production of erythropoietin in the dog.
Amer. J. Physiol. 210, 238 (1966)

2. ADAMSON, J.W. : The Erythropoietin/Hematocrit Relationship in Normal and Polycythemic Man: Implications of Marrow Regulation.
Blood 32, 597 (1968)

3. ADAMSON, J.W., R. ALEXANIAN, C. MARTINEZ and C.A. FINCH : Erythropoietin. Excretion in Normal Man.
Blood 28, 354 (1966)

4. ALEXANIAN, R. : Urinary Excretion of Erythropoietin in Normal Man and Woman.
Blood 28, 344 (1966)

5. BEGEMANN, H. : Klinische Hämatologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 384 (1970)

6. BOLL, I. : Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1966

7. BOLL, I. und G. MERSCH : Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.
Blut, XVII, 193 (1968)

8. BOLL, I. und G. MERSCH : Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulozytopoese in vitro.
Blut, XIX, 257 (1969)

9. BOLL, I. : Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkzellen in vitro. III. Entstehung von zweikernigen Zellen.
Folia haemat. 3, 1:84 (1958)

10. BOLL, I. : Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkzellen in vitro. IV. Die Entstehung von tetraploiden Zellkernen (Riesenmetamyelozyten) u.a.
Blut, 11, 129 (1965)

11. BORSOOK, H. and A. GRAYBIEL : Polycythemic Response in Normal Adult Rats to a Nonprotein Plasma Extract from Anemic Rabbits.
Blood 7, 734 (1954)

12. COTES, P.M. and D.R. BANGHAM : The International Reference Preparation of Erythropoietin.
Bull. Org. mond. Santé 35, 751 (1966)

13. COTES, P.M. and D.R. BANGHAM : Bio-assay of erythropoietin in mice made polycythemic by exposure to air at a reduced pressure.
Nature 191, 1065 - 1067 (1961)

14. CONRAD, M.E., A.L. FOY, H.L. WILLIAMS and W.H. KNOSPE : Effect of starvation and protein depletion on ferrokinetics and iron absorption.
Amer. I. Physiol. 213, 557 - 565 (1967)

15. CONTRERA, J.F.: and A.S. GORDON : Erythropoietin: Production by a Particulate Fraction of Rat Kidney.
Science 152, 653 (1966)

16. DUKES, P.P. : Erythropoietin-Stimulated Incorporation of 1 -^{14} - Glucosamine into Glycolipids of Bone Marrow Cells in Culture.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 345 - 353 (1968)

17. ERSLEV, A.J. : Effect of Erythropoietin on the Uptake and Utilization of Iron by Bone Marrow Cells in vitro.
Proc. Soc. exp. Biol. 110, 616 - 619 (1962)

18. ERSLEV, A.J. : Erythropoietin in vitro. In L.O. Jacobson and M. Doyle: Erythropoiesis, Grune and Stratton, N. Y. - London 1962, 275

19. ERSLEV, A.J. : Erythropoietic Factor in the Control of Red Cell Production. Ann.N.Y.Acad.Sci. 77, 627 (1959)

20. ERSLEV, A.J. : Erythropoietin in Vitro. II. Effect on "Stem Cells". Blood 24, 331 (1964)

21. ERSLEV, A.J. : Humorale Regulation of Red Cell Production. Blood 8, 349 (1953)

22. ERSLEV, A.J.and L.A. KAZAL : Inactivation of Erythropoietin by Tissue Homogenates. Proc.Soc.exp.Biol. 129, 845 (1968)

23. FINNE, P.H. : Erythropoietin in Concentrates of Urine from healthy Persons. Brit. med. J. 1, 697 (1965)

24. FISHER, J.W., R. SCHEFIELD and D.D. PORTEOUS : Effects of Renal Hypoxia on Erythropoietin Production. Brit.J.Haemat. 11, 382 (1965)

25. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE und V.B. BOND : Möglichkeiten und Grenzen der Markierung hämopoetischer Zellsysteme mit 3H-Thymidin zur Bestimmung ihrer Proliferationsdynamik. 8^h Halbwertzeit der Keimzentrumzellen. Folia haemat. N.F. 6, 1 (1961)

26. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE und V.B. BOND : Reifung, Lebenserwartung und Schicksal neutrophiler Granulozyten. Med. Welt 10, 466 (1964)

27. FORSSELL, J. : Nephrogenous Polycythaemia. Acta med. scand. 161, 169 (1958)

28. FORSSELL, J. : Polycythemia and Hypernephroma.
Acta med. scand. 150, 115 (1954)

29. FRIED, W. and T. KILBRIDGE : Effect of testosterone and of cobalt on erythropoietin production by anephric rats.
J.Lab.clin.Med. 74, 623 (1969)

30. FRIED, W., L.F.PLAZAK, L.O. JACOBSON and E. GOLDWASSER : Studies on Erythropoisis. III. Factors Controlling Erythropoietin Production.
Proc. Soc. exp. Biol. 94, 237 (1957)

31. FRIED, E., T. KILBRIDGE, S. KRANTZ, T.P. MC DONALD and R.D. LANGE : Studies on extrarenal erythropoietin.
J.Lab.clin.Med. 73, 244 (1969)

32. GALLIEN-LARTIGUE, O. and E. GOLDWASSER : Hemoglobin Synthesis in Marrow Cell Culture. The Effect of Rat Plasma on Rat Cells.
Science 145, 277 - 280 (1966)

33. GORDON, A.S., E.D. ZANJANI, I.F. CONTRERA, G.W. COOPER, K.K. WONG and R. KATZ : Properties of the Renal Erythropoietic Factor (REF).
Blood 28, 977 - 978 (1966)

34. GORDON, A.S., S.J. PILIERO, W. KLIENBERG and H.H. FREEDMAN : A Plasma Extract with Erythropoietic Activity.
Proc.Soc.exp.Biol. 86, 255 (1954)

35. GURNEY, C.W., E. GOLDWASSER and C. PAN : Studies on Erythropoietin. VI. Erythropoietin in Human Plasma.
J.Lab.clin.Med. 50, 534 (1957)

36. GURNEY, C.W., N. WACKMAN and E. FILMANOWICZ : Studies on Erythropoiesis. XVII. Some Quantitative Aspects of the Erythropoietic Response to Erythropoietin.
Blood 17, 531 (1961)

37. HAMMOND, G.D. and A. ISHIKAWA : The Rate of Disappearance of Erythropoietin Following Transfusion of Severely Anemic Patients.
In: Erythropoiesis, p. 128, Ed. Jacobson L.O. and M. Doyle.
Grune and Stratton, New York - London, 1962

38. HODGSON, G. : Synthesis of RNA and DNA at Various intervals after erythropoietin injection in transfused mice.
Proc. Soc. exp. Biol. 124, 1045 - 1047 (1967)

39. JACOBSON, L.O., E. GOLDWASSER, L.F. PLAZAK and W. FRIED : Studies on Erythropoiesis. Part IV. Reticulocyte Response of Hypophysectomized and Polycythemic Rodents to Erythropoietin.
Proc. Soc. exp. Biol. 94, 243 - 249 (1957)

40. JACOBSON, L.O., E. GOLDWASSER, C.W. GURNEY, W. FRIED and L. PLAZAK : Studies of erythropoietin: the hormone regulating red cell production.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 77, 551 - 571 (1959)

41. JACOBSON, L.O., E. GOLDWASSER, W. FRIED and L. PLAZAK : Role of the Kidney in Erythropoiesis.
Nature 179, 633 (1957)

42. KLEMM, T. : Die renale Polycythaemie bei zystischen Nierenkrankheiten.
Dissertation, Berlin 1971

43. KRANTZ, S.B., O. GALLIEN-LARTIGUE and E. GOLDWASSER : The Effect of Erythropoietin upon Heme Synthesis by Marrow Cells in Vitro.
J.biol.Chem. 238, 4085 (1963)

44. KURATOWSKA, Z., B. LEWARTOWSKI and B. LIPIŃSKI : Chemical and biologic properties of an erythropoietin-generating substance obtained from perfusates of isolated anoxic kidneys.
J.Lab.clin.Med. 64, 226 (1964)

45. KURATOWSKA, Z. : On the Subcellular Localization of the Erythropoietic Renal Factor.
Bull. Acad. pol. Sci. 13, 385 (1965)

46. KURATOWSKA, Z., B. LEWARTOWSKI and E. MICHALAK : Studies on the Production of Erythropoietin by the Isolated Hypoxic Kidney.
Bull. Acad. pol. Sci. 8, 77 (1960)

47. KURATOWSKA, Z., B. LEWARTOWSKI and E. MICHALAK : Studies on the production of erythropoietin by isolated perfused organs.
Blood 18, 527 (1961)

48. MATOTH, Y. : In vitro methods on the study of erythropoietin. In: Erythropoiesis. Edit. by L.O. Jacobson and M. Doyle.
N. Y. and London, Grune and Stratton, 1962, 299

49. MATOTH, Y. and E. BEN PORATH : Effect of erythropoietin on the mitotic rate of erythroblasts in bone marrow cultures.
J.Lab.clin.Med. 54, 722 (1959)

50. MIRAND, E.A., G.P. MURPHEY, R.A. STEEVES, H.W. WEBER and F.P. RETIEF : Extra-Renal Production of Erythropoietin in Man.
Acta haemat. 39, 359 (1968)

51. NECAS, E. and J. NEUWIRT : The Role of Oxygen Supply in the Regulation of Erythropoiesis in Compensated Anaemia.
Scand. J. Haemat. 6, 179 (1969)

52. PAVLOVIC-KENTERA, V., D.F. HALL, C. BRAGASSA and R.D. LANGE : Unilateral renal hypoxia and production of erythropoietin.
J.Lab.clin.Med. 65, 577 (1965)

53. PEETS, E.A. and A.S. GORDON : Effect of erythropoietin on Glucose utilization by bone marrow cells.
Life Sci. 7, 561 - 565 (1968)

54. PENINGTON, D.G. : Relation of Erythropoietin to Polycythemia.
Proc. Roy. Soc. Med. 59, 1091 - 1094 (1966)

55. PILIERO, S.J., P.T. MEDICI, B. PANSKY, A.L. LUHBY, A.S. GORDON : Erythropoietic Stimulating Effects of Plasma Extracts from Anemic Human Subjects.
Proc. Soc. exp. Biol. 93, 302 (1956)

56. POWSNER, E. and L. BERMAN : Erythropoietin-induced DNA synthesis in normoblasts in vitro: Effect of actinomycin D. Life Sci. 6, 1713 - 1720 (1967)

57. REISNER, E.H., jr.: Tissue culture of bone marrow. III. Myelostimulatory Factors in Serum of Patients with Myeloproliferative Diseases.
Cancer 20, 1679 (1967)

58. REISNER, E.H. jr. : Characterization of an erythrostimulatory factor in polycythämia vera serum.
13. Int. Congr. of Haematol. München 1970, 166

59. REISNER, E.H. jr. : Measurement of erythropoiesis in vitro by Fe 59 uptake of marrow. XII. Congr. Intern. Soc. Haematol. N.Y., 1968, 160

60. REMMELE, W. : Die humorale Steuerung der Erythropoese.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963

61. REMMELE, W. : Erythropoietin.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 74, 80 (1968)

62. RÖHLING, H. : Die Proliferationskinetik der Granulopoese am ersten Kulturtag bei normalem und megaloblastischem Knochenmark.
Diss. Berlin, 1966

63. ROHR, K. : Das menschliche Knochenmark.
3. Aufl. Thieme, Stuttgart 1960

64. ROSSE, W.F. and T.A. WALDMANN : The Metabolism of Erythropoietin in Patients with Anemia Duc to Deficient Erythropoiesis.
J.clin.Invest. 43, 1348 (1964)

65. RUHENSTROTH-BAUER, G. : Versuche zum Nachweis eines spezifischen erythropoetischen Hormons.
Arch. exper. Path. Pharmakol. 211, 32 (1950)

66. SCHLUETER, R.J., H. NORGELLO and W.F. WHITE : Erythropoietin. I. Analysis of Radioiron Assay in Fasted Rats, Using Cobalt as a Reference Standard.
Proc. Soc. exp. Biol. 103, 43 - 46 (1960)

67. SCHOOLEY, I.C. and J.F. GARCIA a. Some Properties of Serum Obtained from Rabbits Immunized with Human Urinary Erythropoietin.
Blood 25, 204 (1965)

68. " b. Immunologic Studies on the Mechanism of Action Erythropoietin.
Proc. Soc. exp. Biol. 110, 636 (1962)

69. " c. Immuno-chemical Studies of Human Urinary Erythropoietin.
Proc. Soc. exp. Biol. 109, 325 (1962)

70. TAKAKU, F., K. HIRASHIMA and K. NAKAO : Studies on the mechanism of erythropoietin production. I. Effect of unilateral constriction of the renal artery.
J.Lab.clin.Med. 59, 815 (1962)

71. TROESTER, P.-M. : Die Einwirkung eines Serums ohne nachweisbaren Erythropoietingehalt bei langjähriger Polyglobulie auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. FU Berlin, 1972

72. VAN DYKE, D. and M. POLLYCOVE : The Relation of Erythropoietin to Anemia and Polycythemia.
In: Erythropoiesis, 340 - 350, Ed. Jacobson, L.O. and M. Doyle: Grune and Stratton, New York - London 1962

73. VAN DYKE, D., M.L. NOHR and I.H. LAWRENCE : Erythropoietin in the Urine of Normal and Erythropoietically Abnormal Human Beings.
Blood 28, 535 - 543 (1966)

74. WARD, H.P. : An in vitro Assay of Erythropoietin.
Proc. Soc. exp. Biol. 125, 370 (1967)

75. WINKERT, J.W. and A.S. GORDON : Enzymic actions on the human urinary erythropoietic-stimulating factor.
Bioch. biophys. Acta 42, 170 - 171 (1960)

76. WOLTERS, H.G. : Spezifische humorale Regulation der Erythropoese.
Habilitationsschrift, Berlin 1970

77. WOLTERS, H.G. : Beziehungen zwischen Erythropoietin und erythropoetisch wirksame Faktoren in Leber-, Milz-, Haut- und Muskelgewebe.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75, 457 (1969)

78. WONG, K.K., E.D. Zanjani, G.W. Cooper and A.S. GORDON : The Renal Erythropoietic Factor. V. Studies on Its Purification.
Proc. Soc. exp. Biol. 128, 67 (1968)

Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie.

EURATOM - GSF, Nr. 031 - 64 - 1 BIAD